

(11) Japanese Patent Application Laid-Open No.10-113384

(43) Publication Date: May 6, 1998

(21) Application Number: Japanese Patent Application No.
08-270415

(22) Filing Date: October 14, 1996

(71) Applicant: 591101825

Yoshihiko Shimizu

(72) Inventor: Yoshihiko Shimizu

(72) Inventor: Nagahiro Ri

(72) Inventor: Yasumichi Yamamoto

(72) Inventor: Tetsuya Shimizu

[Claims]

[Claim 1] A medical substitute membrane, which comprises a laminate having a porous intermediate material comprising a sheet-like biodegradable absorbable material between two layers of a collagen membrane via an adhesive, wherein at least one external surface of the laminate has a gelatin gel layer or a hyaluronic acid layer.

[Claim 2] The medical substitute membrane according to claim 1, wherein the collagen membrane is a human-derived natural collagen membrane.

[Claim 3] The medical substitute membrane according to claim 2, wherein the human-derived natural collagen membrane is a

human amnion-derived collagen membrane.

[Claim 4] The medical substitute membrane according to claim 1, wherein the collagen membrane is a membrane comprising neutral solubilized collagen, acid solubilized collagen, alkali solubilized collagen or enzymatic solubilized collagen.

[Claim 5] The medical substitute membrane according to claim 1, wherein the porous intermediate material comprises a material selected from polyglycolic acid (PGA), polylactic acid, a copolymer of glycolic acid and lactic acid, polydioxanone, a copolymer of glycolic acid and trimethylene carbonate, and a mixture of polyglycolic acid and polylactic acid.

[Claim 6] The medical substitute membrane according to claim 1, wherein the gelatin gel layer or the hyaluronic acid layer is a crosslinked gelatin gel layer or hyaluronic acid layer.

[Claim 7] The medical substitute membrane according to claim 6, wherein the crosslinked gelatin gel layer or hyaluronic acid layer is crosslinked to such an extent that it can remain in a living body for 2 to 3 weeks.

[Claim 8] A process for preparing a medical substitute membrane as defined in claim 6, which comprises holding a porous intermediate material comprising a sheet-like biodegradable absorbable material between two collagen membranes via an adhesive to form a laminate; subjecting the laminate to a first crosslinking treatment; forming a gelatin gel layer or a hyaluronic acid layer on at least one external surface of the

laminate; and subjecting the laminate to a second crosslinking treatment.

[0012] In order to ensure a strength enduring suture upon suturing to an operated wound as a material for filling a defective part of a biomembrane, a laminate in the medical substitute membrane of the present invention described herein is a laminate in which a porous intermediate material comprising a sheet-like biodegradable absorbable material is held by two layers of a collagen membrane, and this is adhered with an adhesive. In a laminate comprising only a collagen membrane without holding an intermediate material, suturing is difficult. In addition, since a porous intermediate material held between two layers of a collagen membrane in the present laminate is gradually degraded and absorbed after application to an operated wound, and is replaced with a reproduced biomembrane, the material is a porous sheet-like intermediate material comprising a biodegradable absorbable material which does not remain as a foreign matter in a body. As this biodegradable absorbable material, various materials can be used as far as they are degraded and absorbed by hydrolysis or enzymatic degradation in a living body, have no toxicity, and have some extent of a mechanical strength. Inter alia, polyglycolic acid (PGA), polylactic acid, a copolymer of glycolic acid and lactic

acid, polydioxanone, a copolymer of glycolic acid and trimethylene carbonate, or a mixture of polyglycolic acid and polylactic acid is preferable, and a porous intermediate material comprising polyglycolic acid is particularly preferable.

[0018] A process for preparing the medical substitute membrane of the present invention will be described below. For preparing a laminate in the medical substitute membrane of the present invention, first, a collagen membrane is prepared using, as a raw material, various collagens described in detail above which have previously used. Using various collagens, preferably, neutral solubilized collagen, acid solubilized collagen, alkali solubilized collagen, or enzyme solubilized collagen, particularly preferably, alkali solubilized collagen or enzyme solubilized collagen as a raw material, a collagen solution in hydrochloric acid (about 1 N, pH about 3) is prepared, a collagen hydrochloric acid solution layer is formed by the conventional method such as coating or casting of a collagen hydrochloric acid solution, and the layer is dried, thereby, a collagen membrane is obtained. A concentration of collagen in a collagen hydrochloric acid solution used herein can be appropriately adjusted depending on a thickness or a density of a desired collagen membrane, and is preferably 0.1 to 3% by weight,

particularly 0.5 to 2% by weight. A thickness of a collagen hydrochloric acid solution layer is adjusted so that a thickness of a finally formed collagen membrane becomes preferably about 1 to 20mm, particularly about 2 to 5mm. When a thickness of a collagen membrane is less than about 1mm, absorption of collagen in a living body is too fast, and sufficient adhesion preventing effect is not obtained. On the other hand, when a thickness exceeds about 20mm, there is a possibility that a problem of difficult handling is generated. This collagen membrane is preferably formed to be porous so that invasion, spread and proliferation into a living cell are easily performed after application to an operated wound. For obtaining a porous collagen membrane, it is particularly preferable to use a collagen solution which has been expanded by stirring.

[0019] In addition to the collagen membrane prepared as described above, a human amnion-derived collagen membrane, particularly preferable, a human amnion-derived collagen membrane can be used. A human amnion-derived collagen membrane may be obtained and purified from an integrated substance comprising a human fetal membrane, a placenta and an umbilical cord obtained as secundina immediately after delivery by any method. For example, it is preferable to use a human amnion-derived collagen membrane which has been separated and purified by the method described in detail above.

[0020] Upon preparation of the medical substitute membrane of

the present invention, a porous intermediate material comprising the sheet-like biodegradable absorbable material explained in detail above is held by two layers of a collagen membrane obtained as described above, and this is adhered with an adhesive to obtain a laminate. Lamination may be performed by any method and, for example, a porous intermediate material comprising a sheet-like biodegradable absorbable material is immersed in an adhesive solution, each one layer of a collagen membrane is overlaid on its both sides into a sandwich-like, and this is retained to sufficiently remove bubbles, and dried, thereby, lamination can be performed. As an adhesive, as described above, a solution in which collagen is dissolved in hydrochloric acid (about 1N, pH about 3) or an aqueous gelatin solution is used. A concentration of an aqueous gelatin solution is, for example, about 1 to 30% by weight, and a concentration about 2.5% by weight is preferable from a viewpoint of handling. A concentration of collagen of a collagen hydrochloric acid solution used as an adhesive is preferably about 1 to 3% by weight, particularly about 1% by weight.

[0021] Then, the laminate obtained above is subjected to a first crosslinking treatment. By performing crosslinking treatment, a laminate can be regulated so that the laminate can remain without peeling or degradation for about 3 to 4 weeks after application to a living body. By making remain for 3 to 4 weeks,

adhesion is prevented and, at the same time, spread of a biomembrane is promoted. In addition, adherability of a laminate is also enhanced. Examples of a crosslinking method include a crosslinking method using γ -ray, ultraviolet-ray, electron beam, glutaraldehyde or epoxy, and a thermal dehydration crosslinking method using heat. Preferably, thermal dehydration crosslinking in which a crosslinking degree is easily controlled and influence of a crosslinking agent on a living body does not become a problem is performed. For thermal dehydration crosslinking, the laminate obtained above is heated at preferably lower than about 105 to 150°C, particularly about 140°C, for preferably about 12 to 48 hours, particularly about 24 hours under high vacuum (about -0.08 mPa or lower). When a temperature is lower than about 105°C, a sufficient crosslinking reaction does not occur, and a sufficient adhering force is not obtained. When a temperature is about 150°C or higher, a strength of an intermediate material is reduced, and a collagen membrane is denatured.

[0022] A gelatin gel layer or a hyaluronic acid layer is formed on at least one external surface, that is, both external surfaces or one side external surface of the laminate obtained as described above. Since gelatin has action of preventing adhesion and proliferation of a cell in contrast to collagen, a gelatin gel layer can be used as an adhesion preventing layer for preventing spread of a cell from a peripheral biological

tissue, at a place where it is necessary to prevent adhesion. In addition, hyaluronic acid has effect of improving stability of collagen, and has adhesion preventing ability.

[0023] A gelatin gel layer after crosslinking which is obtained by subjecting a gelatin gel layer formed herein to a second crosslinking treatment described later has a role in preventing a collagen membrane of the present substitute membrane from adhesion to a peripheral tissue until respective biomembranes are reproduced and, after application to a living body, it is gradually degraded and absorbed. For this reason, in order to make the present gelatin gel layer remain without being degraded and absorbed for about 2 to 3 weeks until a biomembrane is spread and reproduced from a periphery of a membrane-defective part and a defective part of a membrane is choked, a second crosslinking treatment is performed. In order to make a gelatin gel layer after crosslinking treatment remain in a body for about 2 to 3 weeks after application to a living body, a gelatin gel layer is formed using an aqueous gelatin solution of preferably about 2 to 30% by weight, particularly about 20% by weight. When an about 20 wt% aqueous gelatin solution is used, a gelatin gel layer is formed so that it becomes preferably about 1 to 7mm, particularly about 3 to 5mm at wetting, and it becomes preferably about 0.3 to 3mm, particularly about 1 to 3mm at drying. A gelatin gel layer may be formed by any method such as coating and immersion. For example, an aqueous gelatin

solution is poured into a container such as a petri dish so that a necessary thickness is obtained, a laminate obtained as described above is placed thereon, and this is allowed to stand to gel gelatin. When a gelatin gel layer is formed on both external surfaces, another side of a laminate is similarly treated to form a gelatin gel layer on both external surfaces.

[0024] Then, the thus obtained laminate in which a gelatin gel layer is formed on both external surfaces or one external surface is subjected to a second crosslinking treatment. By performing crosslinking treatment, a degradation absorption rate of a gelatin gel layer is controlled. As a crosslinking method, thermal dehydration crosslinking is preferable for the same reason as that described above. In order to make remain a gelatin gel layer for about 2 to 3 weeks after application to a living body by performing thermal dehydration crosslinking, the laminate in which a gelatin gel layer formed is subjected to thermal dehydration crosslinking treatment at preferably lower than about 105 to 150°C, particularly at about 120°C for preferably about 12 to 48 hours, particularly about 24 hours under high vacuum (about - 0.08 mPa or lower). When a temperature is lower than about 105°C, a crosslinking reaction does not sufficiently occur. When a temperature is about 150°C or higher, a collagen membrane is denatured.

[0025] When a hyaluronic acid layer is formed, using an aqueous sodium hyaluronate solution of preferably about 0.5 to 2.0 mg/ml,

particularly about 1.0 mg/ml, an aqueous sodium hyaluronate solution layer is formed on at least one external surface, that is, both external surfaces or one side external surface of the laminate obtained as described by a method such as coating and immersion, and this aqueous solution layer is air-dried to obtain a hyaluronic acid layer. An aqueous sodium hyaluronate solution layer is formed at a thickness of preferably about 0.5 to 4.0mm, particularly about 2mm at wetting, and preferably about 0.1 to 2.0mm, particularly about 1.0mm at drying (in the case of about 1.0 mg/ml aqueous solution) so that a hyaluronic acid layer can remain without being degraded or absorbed for about 2 to 3 weeks until a biomembrane is spread and reproduced from a periphery of a membrane defective part, and a defective part of a membrane is choked. In order to immobilize hyaluronic acid on a surface of the laminate to obtain a hyaluronic acid layer, a second crosslinking treatment is further performed and, in the case of hyaluronic acid, it is preferable to perform crosslinking treatment with water-soluble carbodiimide (WSC). In this case, it is preferable to crosslink a carboxyl group of collagen and an amino group of hyaluronic acid by mixing an aqueous sodium hyaluronate solution with WSC in advance, and applying the mixture together with sodium hyaluronate to the laminate. A concentration of WSC to be contained in an aqueous sodium hyaluronate solution is preferably about 5 to 20 mg/ml, particularly about 8 to 15 mg/ml. An aqueous solution

containing this sodium hyaluronate and WSC is prepared, sufficiently stirred, coated on at least one external surface of the laminate so that a thickness is preferably about 2mn, and air-dried to form a hyaluronic acid layer.

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平10-113384

(43)公開日 平成10年(1998)5月6日

(51)Int.Cl.⁶

A 6 1 L 27/00
B 3 2 B 9/02
27/36

識別記号

F I

A 6 1 L 27/00
B 3 2 B 9/02
27/36

V

審査請求 未請求 請求項の数8 O L (全 9 頁)

(21)出願番号 特願平8-270415

(22)出願日 平成8年(1996)10月14日

特許法第30条第1項適用申請有り 平成8年8月31日
日本人工臓器学会発行の「人工臓器第34回大会予稿集
第25巻」に発表

(71)出願人 591101825

清水 廉彦

京都府宇治市木幡御歳山39-676

(72)発明者 清水 廉彦

京都府宇治市木幡御歳山39-676

(72)発明者 李 永浩

大阪府八尾市西山本町5丁目6-14

(72)発明者 山本 恒通

京都府京都市左京区一乗寺松原町107-1

(72)発明者 清谷 哲也

京都府京都市中京区聚楽廻東町15-1 グ

ランドムール聚楽404

(74)代理人 弁理士 津国 肇 (外2名)

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 医用代替膜及びその製造方法

(57)【要約】

【課題】 脳硬膜、心膜、胸膜、腹膜又は漿膜などの生体膜の欠損部分を補填する材料として使用することができる医用代替膜であって、倫理上の問題もなく、安定して供給され、感染の恐れがなく、細胞の変性を起さず、生体への適用後の分解速度をコントロールでき、望ましくは生体膜に対して再生促進作用のある医用代替膜を提供する。

【解決手段】 2層のコラーゲン膜の間に、シート状の生体内分解吸収性材料からなる多孔性中間材を接着剤を介して有する積層体であって、該積層体の少なくとも一方の外側表面に、ゼラチンゲル層又はヒアルロン酸層を有する医用代替膜、及びその製造方法。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 2層のコラーゲン膜の間に、シート状の生体内分解吸収性材料からなる多孔性中間材を接着剤を介して有する積層体であって、該積層体の少なくとも一方の外側表面に、ゼラチングル層又はヒアルロン酸層を有する医用代替膜。

【請求項2】 コラーゲン膜が、ヒト由来の天然コラーゲン膜である請求項1記載の医用代替膜。

【請求項3】 ヒト由来の天然コラーゲン膜が、ヒト羊膜由来コラーゲン膜である請求項2記載の医用代替膜。

【請求項4】 コラーゲン膜が、中性可溶化コラーゲン、酸可溶化コラーゲン、アルカリ可溶化コラーゲン、又は酵素可溶化コラーゲンからなる膜である請求項1記載の医用代替膜。

【請求項5】 多孔性中間材が、ポリグリコール酸(PGA)、ポリ乳酸、グリコール酸と乳酸との共重合体、ポリジオキサン、グリコール酸とトリメチレンカーボネートの共重合体、及びポリグリコール酸とポリ乳酸との混合物から選択される材料からなる請求項1記載の医用代替膜。

【請求項6】 ゼラチングル層又はヒアルロン酸層が、架橋されたゼラチングル層又はヒアルロン酸層である請求項1記載の医用代替膜。

【請求項7】 架橋されたゼラチングル層又はヒアルロン酸層が、生体内で2~3週間残存できる程度に架橋されたものである請求項6記載の医用代替膜。

【請求項8】 請求項6記載の医用代替膜を製造する方法であって、シート状の生体内分解吸収性材料からなる多孔性中間材を、接着剤を介して2層のコラーゲン膜で挟んで積層体とし；該積層体を第1の架橋処理に付し；該積層体の少なくとも一方の外側表面にゼラチングル層又はヒアルロン酸層を形成し；該積層体を第2の架橋処理に付す方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、医用代替膜、詳細には、脳硬膜、心膜、胸膜、腹膜又は漿膜などの生体膜の欠損部分を補填することによって生体部分間の癒着を防止することができる医用代替膜及びその製造方法に関する。

【0002】

【従来の技術】 各種疾患又は外傷等のため、脳や、各種臓器の外科手術を行い、術創を閉じる際に、切開した脳硬膜、心膜、胸膜、腹膜又は漿膜などを再縫合して閉鎖する必要があるが、縫いしろによる短縮分が生じたり、膜が部分的に切除するために完全に閉鎖しきれず、膜に欠損部が生じることが多い。このような欠損部をそのまま放置すると、膜の欠損した箇所から脳、心臓、肺、腸などの臓器が、周囲の組織との癒着を起こすため、組織が損傷し、良好な予後が得られない。このため従来

は、この欠損部分を補填するための材料として、脳硬膜については、死体より採取した凍結乾燥ヒト脳硬膜や、多孔性の延伸ポリテトラフルオロエチレンフィルム材

(EPTFE) (組織用ゴアテックス、登録商標) が使用されており、また乳酸とε-カプロラクトンとの共重合体(50:50)が現在開発されつつある。心膜については、やはりEPTFE材や、ウシ心膜、ウマ心膜などが使用されている。胸膜又は腹膜については、代替膜として何も使用されていないのが現状である。

【0003】しかし、ヒト脳硬膜の使用については、補填した材料と脳実質組織とが癒着を生じ、術後にテンカン発作を惹起する恐れがあるという難点があるばかりでなく、ヒトの死体から採取することの倫理的問題や、供給量が非常に限定されているという問題があり、更にまた最近では、脳硬膜を移植された患者における、移植脳硬膜が原因のCreutzfeldt-Jakob Disease (CJD) の発生が報告されている(脳神経外科、21(2):167-170, 1993)。また、EPTFE材は、生体内で分解されず、異物として残存するため、生体組織と接触すると、組織細胞が脂肪変性を起してしまう。乳酸とε-カプロラクトンの共重合体は、生体内分解性であり、生体への適用後、徐々に分解するが、分解吸収されるまでにはほぼ1年という長期間を要する。そのため、それはやはり異物として生体内にしばらくの間残存して、組織に炎症を惹起し、肉芽腫を形成することがある。この共重合体は、

(L) 体の乳酸を配合しているため、共重合体中で乳酸が結晶化して、炎症を惹起することがある。また、EPTFE、乳酸とε-カプロラクトンの共重合体のいずれにも、生体膜の再生を促す作用はない。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】 このため、倫理上の問題もなく、安定して供給され、生体への適用後は、術後の術創の癒着を防止し、感染の恐れがなく、細胞の変性を起こさず、適用後の分解速度をコントロールでき、望ましくは生体膜、特に脳硬膜、心膜、胸膜、腹膜又は漿膜に対して再生促進作用がある材料の開発が求められてきた。

【0005】

【課題を解決するための手段】 本発明は、2層のコラーゲン膜の間に、シート状の生体内分解吸収性材料からなる多孔性中間材を接着剤を介して有する積層体であつて、該積層体の少なくとも一方の外側表面に、ゼラチングル層又はヒアルロン酸層を有する医用代替膜に関する。

【0006】 本発明は、また、上記医用代替膜を製造する方法であつて、シート状の生体内分解吸収性材料からなる多孔性中間材を、接着剤を介して2層のコラーゲン膜で挟んで積層体とし；該積層体を第1の架橋処理に付し；該積層体の少なくとも一方の外側表面にゼラチングル層又はヒアルロン酸層を形成し；該積層体を第2の架

橋処理に付す方法に関する。

【0007】本発明の医用代替膜は、生体由来材料であり、生体親和性及び組織適合性に優れ、抗原性が低く、宿主細胞の伸展・増殖を促進させる作用を有し、止血作用を有し、生体内で完全に分解吸収されるコラーゲンを原料とする2層のコラーゲン膜の間に、シート状の生体内分解吸収性材料からなる多孔性中間材を接着剤を介して有する積層体であって、その少なくとも一方の外側表面にゼラチンゲル層又はヒアルロン酸層を有する医用代替膜である。

【0008】以下に、本発明の、医用代替膜について記載する。この医用代替膜においては、多孔性中間材を挟む2層のコラーゲン膜の原料となるコラーゲンとしては、従来から用いられている各種コラーゲン、例えば中性可溶化コラーゲン、酸可溶化コラーゲン、アルカリ可溶化コラーゲン、又は酵素可溶化コラーゲンが好ましく、これらのうち、アルカリ可溶化コラーゲン及び酵素可溶化コラーゲンは、不溶性コラーゲンをそれぞれアルカリ処理又はペプシン、トリプシン、キモトリプシン、パパイン、プロナーゼなどの酵素で処理したものであつて、これらの処理によりコラーゲン分子中の抗原性の強いテロペプチド部分が除去されて抗原性が低減されているので、特に好ましい。これらコラーゲンの由来は、特に限定されず、一般に、ウシ、ブタ、ウサギ、ヒツジ、カンガルー、鳥などの動物の皮膚、骨、軟骨、腱、臓器などから得られるコラーゲンが好ましい。このようなコラーゲンを原料とするコラーゲン膜を使用するのが好ましい。コラーゲン膜の厚さは、好ましくは約1～20μm、特に約2～5μmである。

【0009】本発明の代替膜におけるコラーゲン膜は、好ましくは、上記コラーゲンのほか、ヒトより採取及び精製した、コラーゲンを主成分として有する生体膜であるヒト由来の天然コラーゲン膜であって、その本来の膜構造を保持したコラーゲン膜であることもできる。ヒト由来の天然コラーゲン膜は、適度な強度を有するため、取り扱いしやすく、同種タンパク質であるため、ヒトに適用した場合に抗原性が低く、適用された天然コラーゲン膜内に生体の毛細血管が伸展するため、生体膜の再生が促進される。また、生体に適用後、生体により分解吸収されてしまうため、異物として体内に残留しないなどの理由から、ヒト由来の天然コラーゲン膜、なかでも、生体から問題なく得られる医用材料であるヒト羊膜由来コラーゲン膜が、特に好ましい。

【0010】本発明の医用代替膜において好ましく使用することのできるヒト羊膜由来コラーゲン膜は、分娩直後に後産として得られるヒト胎児膜、胎盤及び臍帯からなる一体物から得、精製したものである。例えば、後産として得られる一体物から、胎児膜のみを分離し、この4層からなる胎児膜から羊膜を剥離し、プロテアーゼ阻害剤（例えば、フェニルメチルスルホニルフルオリド、

PMSF）を含む滅菌水で超音波処理して洗浄し、次に非イオン性界面活性剤（例えば、オクチルフェノキシポリエトキシエタノール、トリトーンX、シグマ社）及びプロテアーゼ阻害剤を含むトリス緩衝液で処理し、次に羊膜に付着する異物及用手的に除去し、更に滅菌水で洗浄し、超音波洗浄することによって精製したものである。

【0011】ヒト脳硬膜以外の生体由来材料から、前記のCJDが伝播された報告はないが、CJD患者より羊膜を採取する恐れもあるため、上記の精製処理を行った羊膜を、1N NaOHにより約1時間更に処理することによって、CJDの原因ウイルスを不活性化させておくのが望ましい。

【0012】ここに記載する本発明の医用代替膜における積層体は、生体膜の欠損部分を補填する材料として術創に縫合する際の縫合に耐える強度を確保するために、シート状の生体内分解吸収性材料からなる多孔性中間材を、2層のコラーゲン膜に挟み、接着剤で接着した積層体である。中間材を挟まないコラーゲン膜のみの積層体では、縫合が困難である。また、本積層体において2層のコラーゲン膜の間に挟まれる多孔性中間材は、術創に適用後、徐々に分解吸収されて、再生する生体膜に代わられるため、体内に異物として残留することのない生体内分解吸収性材料からなる多孔性のシート状の中間材である。この生体内分解吸収性材料としては、生体内で加水分解、酵素分解などにより分解吸収され、毒性がなく、ある程度の機械的強度を有するものであれば種々の材料を用いることができる。なかでも、ポリグリコール酸（PGA）、ポリ乳酸、グリコール酸と乳酸との共重合体、ポリジオキサン、グリコール酸とトリメチレンカーボネートの共重合体、又はポリグリコール酸とポリ乳酸との混合物が好ましく、ポリグリコール酸からなる多孔性中間材が特に好ましい。

【0013】生体内分解吸収性材料からなる多孔性中間材の厚さは、好ましくは約10～50μm、特に約20～30μmである。約50μmを超えると、コラーゲン膜が接着しにくく、約10μm未満であると、物性が弱くなる。

【0014】生体内分解吸収性材料からなる中間材が多孔性であるのは、多孔性材料の中間材の孔を介して、接着剤により2枚のコラーゲン膜が密着し、容易には剥離しない一體となった積層体を得ることができ、また縫合に際して、針が孔を通過するので、積層体が裂けることなく、容易に本発明の医用代替膜を術創に縫合することができるからである。

【0015】シート状の生体内分解吸収性材料からなる多孔性中間材の孔を介して2層のコラーゲン膜を密接に接着させるため、多孔性中間材の平均孔径は、好ましくは約50～150μm、特に約60～100μmである。平均孔径が約50μm未満であると、コラーゲン膜

が互いに密着しがたく、約 $150\mu\text{m}$ を超えると、縫合時にコラーゲン膜に裂け目が入り、縫合性が低下する。それぞれの孔の大きさが異なる場合、本発明で述べる平均孔径とは、孔の面積と同じ面積の円の直径を孔径として計算した場合の算術平均である。

【0016】また、2層のコラーゲン膜の間にシート状の多孔性中間材を挟んで接着するための接着剤は、好ましくは、やはり生体内分解吸収性であるゼラチン水溶液又はコラーゲン塩酸溶液である。これらの接着剤の原料であるゼラチンは、従来から用いられているゼラチン、例えば日局精製ゼラチンであり、接着剤の原料であるコラーゲンは、例えば中性可溶化コラーゲン、酸可溶化コラーゲン、アルカリ可溶化コラーゲン、酵素可溶化コラーゲンなど、抗原性が低減されれば、どのようなコラーゲンであってもよい。

【0017】本発明の医用代替膜における積層体は、少なくとも一方の外側表面に、ゼラチングル層又はヒアルロン酸層を有する。ゼラチンは、コラーゲンとは対照的に細胞の接着及び増殖を妨げる作用を有するため、ゼラチングル層は、癒着を防止する必要のある箇所における、周辺の生体組織からの細胞の伸展を防ぐための癒着防止層として作用することができる。また、ヒアルロン酸は、コラーゲンの安定性を向上させる効果を有し、また癒着防止能も有する。本発明の医用代替膜を生体への適用後、約2～3週間、ゼラチングル層又はヒアルロン酸層が分解吸収されずに残存する必要があるため、このゼラチングル層又はヒアルロン酸層は、架橋されたゲラチングル層又はヒアルロン酸層であるのが好ましい。

【0018】以下に、本発明の医用代替膜の製造方法について記載する。本発明の医用代替膜における積層体を製造するには、まず上記に詳細に記載したような従来から用いられている各種コラーゲンを原料として、コラーゲン膜を調製する。各種コラーゲン、好ましくは中性可溶化コラーゲン、酸可溶化コラーゲン、アルカリ可溶化コラーゲン、又は酵素可溶化コラーゲン、特に好ましくはアルカリ可溶化コラーゲン又は酵素可溶化コラーゲンを原料として、コラーゲン塩酸溶液（約1N、pH約3）を調製し、コラーゲン塩酸溶液の塗布、流し込みなどの慣用の方法により、コラーゲン塩酸溶液層を形成し、次いで乾燥することによってコラーゲン膜とする。ここで用いるコラーゲン塩酸溶液におけるコラーゲンの濃度は、所望するコラーゲン膜の厚さ、密度などにより適宜調整することができるが、好ましくは0.1～3重量%、特に0.5～2重量%とする。コラーゲン塩酸溶液層の厚さは、最終的に形成されるコラーゲン膜の厚さが、好ましくは約1～20mm、特に約2～5mmとなるよう調整する。コラーゲン膜の厚さが約1mm未満であると、生体内でコラーゲンの吸収が早過ぎて、十分な癒着防止効果が得られず、また厚さが約20mmを超えると、取扱しにくいという問題が生じる恐れがある。このコラ

ーゲン膜は、術創への適用後、生体細胞の侵入、伸展、増殖が容易に行われるようになり多孔性に形成されることが好ましく、多孔性のコラーゲン膜を得るには、攪拌して発泡させたコラーゲン溶液を用いるのが特に好ましい。

【0019】上記のように調製するコラーゲン膜のほか、ヒト羊膜由来コラーゲン膜、特に好ましくは、ヒト羊膜由来コラーゲン膜を使用することができる。ヒト羊膜由来コラーゲン膜は、分娩直後に後産として得られるヒト胎児膜、胎盤及び臍帯からなる一体物から、どのような方法によって得、精製してもよいが、例えば、上記に詳細に記載した方法で分離及び精製したヒト羊膜由来コラーゲン膜を使用するのが好ましい。

【0020】本発明の医用代替膜を製造するにあたっては、上記に詳細に説明したシート状の生体内分解吸収性材料からなる多孔性中間材を、上記のようにして得た2層のコラーゲン膜で挟み、接着剤で接着して積層体とする。どのような方法で積層してもよいが、例えばシート状の生体内分解吸収性材料からなる多孔性中間材を、接着剤溶液に浸漬し、その両側に、それぞれ1層のコラーゲン膜を重ねてサンドイッチ状にして、保持することによって気泡を十分に除去し、乾燥することによって積層することができる。接着剤としては、上記したように、コラーゲンを塩酸（約1N、pH約3）に溶解した溶液又はゼラチン水溶液を使用する。ゼラチン水溶液の濃度は、例えば約1～30重量%であるが、約2.5重量%の濃度が、取扱の面で好ましい。接着剤として用いるコラーゲン塩酸溶液のコラーゲンの濃度は、好ましくは約1～3重量%、特に約1重量%である。

【0021】次に、上記で得られた積層体を、第1の架橋処理に付す。架橋処理を行うことによって、積層体を、生体への適用後約3～4週間、剥離又は分解せずに残存させるよう調節することができる。約3～4週間残存させることによって、癒着が防止されるとともに、生体膜の伸展が促進される。また、積層体の接着性も高められる。架橋方法としては、γ線、紫外線、電子線、グルタールアルデヒドもしくはエポキシなどを用いた架橋法、又は熱を用いた熱脱水架橋法が挙げられるが、架橋度をコントロールしやすく、架橋剤の生体への影響が問題とならない熱脱水架橋を行うのが好ましい。熱脱水架橋のためには、上記で得られた積層体を、高真空中（約-0.08mPa以下）、好ましくは約105～150℃未満、特に約140℃で、好ましくは約12～48時間、特に約24時間加熱する。約105℃未満では、十分な架橋反応が起きずに、十分な接着力が得られない。約150℃以上では、中間材の強度が低下し、またコラーゲン膜が変性してしまう。

【0022】上記のようにして得た積層体の少なくとも一方の外側表面、つまり両外側表面又は片側外側表面に、ゼラチングル層又はヒアルロン酸層を形成する。ゼラチンは、コラーゲンとは対照的に細胞の接着及び増殖

7
を妨げる作用を有するため、ゼラチングル層を、癒着を防止する必要のある箇所における、周辺の生体組織からの細胞の伸展を防ぐための癒着防止層として使用することができる。また、ヒアルロン酸は、コラーゲンの安定性を向上させる効果を有し、また癒着防止能も有する。

【0023】ここで形成するゼラチングル層を後述する第2の架橋処理に付すことによって得られる架橋後のゼラチングル層は、各生体膜が再生するまで、本代替膜のコラーゲン膜が、周辺組織と癒着するのを防止する役割を有するが、生体への適用後、徐々に分解吸収される。そのため、膜欠損部の周辺から生体膜が伸びて再生して、膜の欠損部分を塞ぐまでの約2～3週間、本ゼラチングル層を分解吸収されずに残存させるために、第2の架橋処理を行う。架橋処理後のゼラチングル層を生体への適用後約2～3週間体内で残存させるためには、好ましくは約2～30重量%、特に約20重量%のゼラチン水溶液を用いてゼラチングル層を形成するが、約20重量%のゼラチン水溶液を用いる場合、湿润時で好ましくは約1～7mm、特に約3～5mm、乾燥時で好ましくは約0.3～3mm、特に約1～3mmになるように、ゼラチングル層を形成する。ゼラチングル層は、塗布、浸漬などどのような方法によって形成してもよいが、例えば、シャーレなどの容器に必要な厚さになるようにゼラチン水溶液を注入して、その上に上記のようにして得た積層体を置いて放置し、ゼラチンをゲル化させる。両外側表面にゼラチングル層を形成する場合は、積層体のもう一方の面についても、同様の処置を行って、両外側表面にゼラチングル層を形成させる。

【0024】次に、このようにして得た、ゼラチングル層を両外側表面又は片側外側表面に形成させた積層体を、第2の架橋処理に付す。架橋処理を行うことによって、ゼラチングル層の分解吸収速度をコントロールする。架橋方法としては、上述と同様の理由で、やはり熱脱水架橋が好ましい。熱脱水架橋を行って、生体への適用後約2～3週間ゼラチングル層を残存させるには、上記のゼラチングル層を形成させた積層体を、高真空中（約-0.08mPa以下）、好ましくは約105～150℃未満、特に約120℃で、好ましくは約12～48時間、特に約24時間熱脱水架橋処理に付す。約105℃未満では、架橋反応が十分に起きず、約150℃以上では、コラーゲン膜が変性してしまう。

【0025】ヒアルロン酸層を形成する場合は、好ましくは約0.5～2.0mg/ml、特に約1.0mg/mlのヒアルロン酸ナトリウム水溶液を用いて、上記のようにして得た積層体の少なくとも一方の外側表面、つまり両外側表面又は片側外側表面に、塗布又は浸漬などの方法によって、ヒアルロン酸ナトリウム水溶液層を形成し、この水溶液層を風乾することによってヒアルロン酸層とする。ヒアルロン酸ナトリウム水溶液層は、膜欠損部の周辺から生体膜が伸びて再生して、膜の欠損部分を塞ぐま

での約2～3週間、ヒアルロン酸層が分解吸収されずに残存することのできるよう、湿润時で好ましくは約0.5～4.0mm、特に約2mm、乾燥時で好ましくは約0.1～2.0mm、特に約1.0mmの厚さとなるように形成する（約1.0mg/mlの水溶液の場合）。該積層体の表面にヒアルロン酸を固定して、ヒアルロン酸層とするために、更に第2の架橋処理を行うが、ヒアルロン酸の場合は、水溶性カルボジイミド（WSC）で架橋処理を行うのが好ましい。この場合、ヒアルロン酸ナトリウム水溶液にあらかじめWSCを混合しておき、ヒアルロン酸ナトリウムと共に、該積層体に適用することによって、コラーゲンのカルボキシル基とヒアルロン酸のアミノ基とを架橋させることができが好ましい。ヒアルロン酸ナトリウム水溶液に含有させるWSCの濃度は、好ましくは約5～20mg/ml、特に約8～15mg/mlとする。このヒアルロン酸ナトリウム及びWSCを含有する水溶液を調製し、十分に搅拌し、厚さが好ましくは約2mmとなるように、該積層体の少なくとも一方の外側表面に塗布し、風乾して、ヒアルロン酸層を形成する。

【0026】上記のようにして得られた本発明の医用代替膜を、各種外科手術後の膜欠損部分を補填することによって、膜欠損部分における臓器と周辺組織との癒着を予防するための、生体代替膜として使用することができる。本発明の代替膜においては、癒着を防止する必要のある周辺組織と接する側に架橋したゼラチングル層又はヒアルロン酸層が向くように、その片側表面又は両側表面にゼラチングル層又はヒアルロン酸層を形成した本発明の代替膜を使用する。本医用代替膜を、心膜の代替膜として使用する場合は、両側表面にゼラチングル層又はヒアルロン酸層を形成した代替膜を、また胸膜、腹膜又は漿膜の代替膜として使用する場合は、片側表面にゼラチングル層又はヒアルロン酸層を形成した代替膜を、ゼラチングル層又はヒアルロン酸層が周辺組織と接する側に向くように使用する。脳硬膜の代替膜として使用する場合は、両側表面又は片側表面にゼラチングル層又はヒアルロン酸層を形成した代替膜のいずれも使用することができる。片側表面にゼラチングル層又はヒアルロン酸層を形成した代替膜を使用する場合は、ゼラチングル層又はヒアルロン酸層が、脳実質組織と接する側に向くように使用する。

【0027】上記のように生体膜の欠損部分を補填する材料としての本発明の医用代替膜は、脳硬膜、心膜、胸膜、腹膜又は漿膜の代替膜として使用することができる。本代替膜を術創に適用すると、術創周辺に残存している脳硬膜、心膜、胸膜、腹膜又は漿膜などの生体膜が、本代替膜との接触箇所から本代替膜のコラーゲン膜を再生の足場として伸展して再生する一方、生体組織がゼラチングル層又はヒアルロン酸層と接する箇所では、細胞の侵入・伸展が予防されるために癒着が防止され、最終的には欠損部分が再生した生体膜によって塞がれ、

本代替膜は、生体によって分解吸収され、完全に消失する。

【0028】

【実施例】以下に記載する実施例により、本発明の医用代替膜及びその製造方法について詳細に説明するが、本発明は、これらの実施例により制限されるものではない。

【0029】調製例1：ヒト羊膜の精製

後産として得られた一体物から胎児膜を分離し、胎児膜から羊膜を剥離し、プロテアーゼ阻害剤（フェニルメチルスルホニルフルオリド、PMSF）0.35mg/lを含有する滅菌水で超音波処理（1kwの発信器）して洗浄

（室温で2時間）し、1%オクチルフェノキシポリエトキシエタノール（トリトンX-100、シグマ社）のトリス緩衝液溶液（PMSF 0.35mg/lを更に含有する）で、室温で24時間処理し、羊膜にまだ付着している異物を用手的に除去し、滅菌水により、室温で48時間洗浄し、滅菌水中、室温で2時間、超音波処理（1kwの発信器）し、1N NaOH水溶液により、室温で1時間処理し、滅菌水により、室温で1時間洗浄し、乾燥することによって、羊膜を精製して、ヒト羊膜由来コラーゲン膜を得た。この方法で得られたコラーゲン膜では、細胞は完全に除去されていた。

【0030】調製例2：積層体の調製

調製例1において調製及び精製し、保存しておいたヒト羊膜由来コラーゲン膜を、滅菌水に浸漬した。シート状の生体内分解吸収性材料として、シート状のPGAメッシュ（サイズ：10cm×15cm、孔径：80μm、厚

さ：50μm、三井東圧化学社製）を、2.5重量%ゼラチン水溶液に浸漬し、PGAメッシュに付着した泡を除去した。次に、該コラーゲン膜を、PGAメッシュに重ねた。本コラーゲン膜を積層していない、PGAメッシュのもう一方の表面に2.5%ゼラチン溶液約7mlを加え、その上にもう1枚のヒト由来の羊膜由来のコラーゲン膜を重ね、サンドイッチ状として、4℃で1時間静置した。積層体を風乾後、デシケーター内で減圧乾燥した。次に、上記で得た積層体を、真空定温乾燥器（YAMA 10 T0製、型式：DP43）を用い、高真空下（約-0.08mPa以下）、105℃、120℃、130℃、140℃又は150℃で、12時間又は24時間静置することによって熱脱水架橋処理に付し、次に常温乾燥状態で保存した。

【0031】試験例1：積層体の接着力試験

調製例2において調製及び熱脱水架橋処理に付した積層体の接着力試験を行った。調製例2で熱脱水架橋処理に付した積層体を、短冊状（1×2.5cm）に切断し、生理食塩水20mlに37℃で浸漬して保存し、毎日、食塩20水中で、積層体をピンセットでつまんで、引っ張り、膜が破損したり、剥離しないかを観察した。各条件で熱脱水架橋に付し、生理食塩水中に浸漬した積層体の羊膜由来のコラーゲン膜が外力によってPGAメッシュと剥離するまでの経過と、静置したままで自然剥離するまでの経過の観察結果を表1に示す。

【0032】

【表1】

表1

架橋条件	浸漬後の経過日数（外力によってコラーゲン膜が剥離した検体数／全検体数）										コラーゲン膜が自然剥離するまでの日数
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
105°C 12時間 高真空中（約-0.08mPa以下）	0/4	4/4									5日後
120°C 24時間 高真空中（約-0.08mPa以下）	0/4	1/4			2/4	3/4	4/4				8日後
130°C 24時間 高真空中（約-0.08mPa以下）	0/4			3/4							18日後
140°C 24時間 高真空中（約-0.08mPa以下）	0/4				1/4			2/4			4/4
150°C 24時間 高真空中（約-0.08mPa以下）	0/4								4/4		20日後
											23日後

【0033】高真空中、105°Cで12時間熱脱水架橋した積層体では、外力を加えると、全例が2日目に剥離した。静置した場合には5日目に、全例において羊膜由來コラーゲン膜が、PGAメッシュと自然に剥離した。高真空中、120°Cで熱脱水架橋した積層体では、外力を加えると2日目に4例中1例においてコラーゲン膜とPGAメッシュが剥離した。7日目には、全例において

コラーゲン膜が剥離した。静置した場合に、8日目に、全例において、コラーゲン膜とPGAメッシュとが自然剥離していた。高真空中、130°Cで熱脱水架橋した積層体では、外力を加えると4日目に4例中3例で、コラーゲン膜が剥離した。また、6日目に4例中4例で剥離が起った。静置した場合には18日目に、4例中4例において、コラーゲン膜とPGAメッシュとが完全に剥離

していた。

【0034】高真空下、140℃で熱脱水架橋した積層体では、外力を加えると4日目に4例中1例で、コラーゲン膜が剥離した。全例においてコラーゲン膜がPGAメッシュと剥離したのは、12日後であった。静置した場合は、20日後に全例においてコラーゲン膜とPGAメッシュが自然剥離した。高真空下、150℃で熱脱水架橋した積層体では、外力を加えると9日目に、4例中4例でコラーゲン膜が剥離した。静置した場合には、全例においてコラーゲン膜がPGAメッシュと剥離したのは、23日後であった。

【0035】上記の結果より、熱脱水架橋温度に比例して、コラーゲン膜とPGAメッシュとの接着性が向上することが認められた。しかし、150℃で熱脱水架橋した積層体をピンセットで引っ張ると、その部分のPGAメッシュが裂けることが観察され、架橋温度が高過ぎると、PGAメッシュの強度が低下することが示唆された。これらの結果より、試験を行った温度条件の中では、140℃が、接着力向上に、最も適当な熱脱水架橋温度であることが認められた。

【0036】実施例1：ゼラチングル層を有する医用代替膜の調製

約20重量%のゼラチン水溶液を調製した。調製例2において、高真空下（約-0.08mPa以下）、140℃で24時間熱脱水架橋処理に付すことによって調製した積層体の片側外側表面に、乾燥時の厚さが約1～2mmとなるように、ゼラチングル層を形成した。これを、高真空下（約-0.08mPa以下）、120℃で24時間、熱脱水架橋処理に付して、本発明の医用代替膜を得た。

【0037】実施例2：ヒアルロン酸層を有する医用代替膜の調製

ヒアルロン酸ナトリウム1.0mg/ml及び水溶性カルボジイミド（WSC）10mg/mlを含む水溶液（pH5.0）を調製し、室温で十分に攪拌した。調製例2において、高真空下（約-0.08mPa以下）、140℃で24時間熱脱水架橋処理に付すことによって調製した積層体の両外側表面に、該水溶液を塗布して、厚さ約2mmのヒアルロン酸ナトリウム水溶液層を形成した。これを風乾後、滅菌処理に付すことによって、本発明の医用代替膜を得た。

【0038】試験例2：癒着防止効果

乾燥時の厚さが約3mmとなるようにゼラチングル層を形成した以外は、実施例1と同様の方法で、片側外側表面にゼラチングル層を有する本発明の医用代替膜を作成し、その癒着防止効果を検討した。ニュージーランドホワイト種の雌性ウサギ24匹を麻酔下に腹部正中切開し、盲腸の左右で、2×3cmの大きさで、漿膜を切除した。また、漿膜欠如部分に対面する腹壁の腹膜を、3×4cmの大きさで切除した。コントロール群（12匹）はそのまま閉腹し、試験群では、本発明の医用代替膜のゼ

ラチングル層を有する面を腹腔に向けて、盲腸の漿膜欠損部に縫合固定して閉腹した。術後2又は6週間後にウサギを犠牲死させて、癒着の程度を、肉眼的及び組織学的に観察した。

【0039】術後の飼育期間中、いずれのウサギの死亡も観察されなかった。コントロール群では、12匹中1匹で、切除箇所に強度の癒着が認められた。本発明の医用代替膜を適用した群では、12匹中10匹で癒着が認められず、2匹では、軽度の癒着が認められた。組織学的には、術後2週間では、本発明の医用代替膜を適用したウサギの腹壁では、腹膜が正常に再生して治癒しており、盲腸の漿膜切除部位では、本代替膜が切除部位を覆っており、ゼラチングル層がわずかに残存していた。術後6週間では、本代替膜はほとんど消失し、漿膜切除部位の表面は、漿膜が覆っていた。上記の結果より、ゼラチングル層を有する本発明の医用代替膜は、癒着防止に有用であることが認められた。本代替膜を生体に適用後、ゼラチングル層が徐々にゾル化するため、生体組織の代替膜への侵入が困難になり、この癒着防止効果が得られたと考えられる。

【0040】試験例3：代替心膜としての効果
実施例2で調製した両外側表面にヒアルロン酸層を有する本発明の医用代替膜、及びコントロールとして延伸ポリテトラフルオロエチレンフィルム材（EPTFE）を、2×2cmの正方形に切って心膜パッチとして、以下の実験に使用した。雑種犬、及びビーグル犬10頭の心膜を2×2cmの正方形に切除し、その切除箇所を、上記の医用代替膜（5頭）又はEPTFE（5頭）のパッチを用いて補填し、その4隅を、4-0又は6-0のプロレン縫合糸を用いて単結節縫合した。術後37～102日目に、イヌを犠牲死させ、術後の補填部位の癒着の程度を、肉眼的、及びヘマトキシリン・エオシン染色を用いて組織学的に観察した。また、心膜補填部位周辺的心膜及び心臓の電子顕微鏡による観察を行った。

【0041】術後の飼育期間中、いずれのイヌの死亡も観察されなかった。また、いずれの心膜パッチにおいても、縫合性は良好であり、縫合時に、本発明の医用代替膜の羊膜由来コラーゲン膜が裂けたり、血液によって濡れて皺になったりすることはなかった。本発明の医用代替膜を用いた心膜パッチを適用したイヌにおいては、5頭中3頭で、心臓への弱・中程度の癒着が認められた。癒着を示さなかったイヌの心膜補填部位の表面は、薄い被膜で覆われ、そこには血管の新生が認められた。組織学的に観察したところ、再生した結合組織が、一定の厚みの膜を形成しており、結合組織膜の表面には、一層の中皮細胞が再生していた。補填部位を電子顕微鏡により観察したところ、微絨毛を有する一層の中皮細胞が、毛細血管を豊富に含む結合組織膜の表面を覆っているのが確認され、補填した中心部位においても同様の所見が認められ、組織の再生がパッチ全体に及んでいるのが確認

された。また、基底膜も正常であった。E P T F E パッチを適用したイヌにおいては、やはり 5 頭中 3 頭で、心臓への弱・中程度の癒着が認められた。心膜補填部位と心膜との接面は、白濁しており、このような所見は、本発明の代替膜を用いた心膜パッチでは観察されなかつた。組織学的に観察したところ、E P T F E パッチは、被膜により覆われており、その被膜のごく一部に中皮細胞が認められるのみで、その被膜のほとんどの部分では、結合組織が露出していた。また、被膜内に血管新生は認められなかつた。肉眼により白濁が認められた箇所では、心筋組織の脂肪変性が顕著に認められた。E P T F E パッチによる補填箇所を電子顕微鏡により観察したところ、パッチ表面に細胞の生着は認められず、微絨毛の存在も認められず、結合組織の多重構造が観察されるのみで、その表面に中皮細胞は認められず、結合組織が露出した状態であった。また、補填部位と心膜との接面における白濁箇所では、微絨毛で覆われるはずの箇所が部分的でない状態であった。

【0042】上記の所見より、本発明の医用代替膜を用

いたパッチは、E P T F E パッチに匹敵する癒着防止効果を示し、補填後に、再生する心膜に置換され、再生した膜の中皮細胞、基底膜及び下部結合組織も正常に近いものである一方、E P T F E パッチは、結合組織の薄い被膜で覆われるのみで、中皮細胞層の再生を示さず、E P T F E パッチと心筋組織との接觸箇所では脂肪変性を起こすことが認められた。これらの点より、本発明の医用代替膜は、E P T F E に匹敵する癒着防止効果を有するとともに、正常な組織を再生させるという点で、E P T F E よりも優れていることが認められた。

【0043】

【発明の効果】本発明の医用代替膜は、倫理上の問題もなく、安定して供給され、生体膜の欠損部分を補填する材料又は癒着防止材として術創に縫合することができる。また縫合後、生体膜が再生するまでの期間残存して、癒着防止効果を示す一方、徐々に分解吸収されるため、生体組織に長期間残存して炎症などを惹起することなく、安全に使用することができる。

フロントページの続き

(72) 発明者 津田 透

滋賀県大津市大萱3丁目17-8, 304

(72) 発明者 寺町 政美

兵庫県姫路市本町68 国立姫路病院病院宿
舎148号

(72) 発明者 滝本 行延

京都府京都市右京区常盤山下町8-8 ア
メリティ双ヶ丘307号

(72) 発明者 中村 達男

京都府京都市上京区仁和寺街道千本西入五
番町158-2 コスモトウディ1109